

Microtom with specimen illumination system

Patent Number: ☐ GB2123169
Publication date: 1984-01-25
Inventor(s): COOPER TERRY W;; KLEBER HEINRICH;; SITTE DR HELMUTH
Applicant(s): REICHERT OPTISCHE WERKE AG
Requested Patent: ☐ DE3235951
Application Number: GB19830017416 19830627
Priority Number(s): DE19823224449 19820630; DE19823235951 19820929
IPC Classification: G01N1/06
EC Classification: G01N1/06, G02B21/06
Equivalents: CA1190445, ☐ FR2529675, ☐ SE8303693

Abstract

A microtome, in particular an ultramicrotome, having a specimen carrier 2 which can be moved relative to a knife. The specimen carrier includes a clamping aperture for holding a specimen 3. A light source is located inside the clamping aperture in the specimen carrier so that light is transmitted, from the rear of the clamping aperture, through a specimen block which is composed of a transparent material, and through the specimen. The light source may be a bulb or a mirror 21 with a remote source 21 optically connected by a fibre optic bundle 23.

A 2394

numerierte Ablage

⑩ BUNDESREPUBLIK
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES
PATENTAMT

⑫ Patentschrift
⑪ DE 3235951 C2

⑤ Int. Cl. J:
G01N 1/06

⑦ Aktenzeichen: P 32 35 951.9-52
⑦ Anmeldetag: 29. 9. 82
④ Offenlegungstag: 5. 1. 84
⑤ Veröffentlichungstag
der Patenterteilung: 26. 4. 84

DE 3235951 C2

Innerhalb von 3 Monaten nach Veröffentlichung der Erteilung kann Einspruch erhoben werden

③ Innere Priorität: ⑫ ⑬ ⑭
30.06.82 DE 32244495

⑦ Patentinhaber:
C. Reichert Optische Werke AG, 1170 Wien, AT

⑦ Vertreter:
Louis, D., Dipl.-Chem. Dr.rer.nat., 8183
Rottach-Egern; Pöhlau, C., Dipl.-Phys., 8500
Nürnberg; Lohrentz, F., Dipl.-Ing., 8130 Starnberg;
Segeth, W., Dipl.-Phys., Pat.-Anw., 8500 Nürnberg

⑦ Erfinder:
Sitte, Hellmuth, Prof., 6100 Seefeld, AT; Cooper,
Terry W., Aspley Guise, M.K., GB; Kleber, Heinrich,
1050 Wien, AT

⑤ Im Prüfungsverfahren entgegengehaltene
Druckschriften nach § 44 PatG:
NICHTS-ERMITTELT

⑤ Mikrotom, insbesondere Ultramikrotom, mit Objektbeleuchtung

DE 3235951 C2

Patentansprüche:

1. Mikrotom, insbesondere Ultramikrotom, mit einem relativ zu einem Messer bewegbaren Objektträger, der eine Einspannöffnung zur Halterung eines Objektblockes aus transparentem Material aufweist, und mit einer Lichtquelle zur Beleuchtung des Objekts, dadurch gekennzeichnet, daß die Lichtquelle (12, 20) innerhalb der Einspannöffnung (10) des Objektträgers (21) angeordnet ist.

2. Mikrotom nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Lichtquelle (12) am Grund der Einspannöffnung (10) hinter dem Objektblock (3) angeordnet ist.

3. Mikrotom nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß zusätzlich eine Lichtquelle (17) zur Beleuchtung des Objekt/Messer-Bereiches des Mikrotoms von oben und/oder eine Unterflurlichtquelle (18) vorgesehen ist.

4. Mikrotom nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß die in dem Objektträger (2) angeordnete Lichtquelle (12) eine Miniatur-Glühbirne ist.

5. Mikrotom nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß als Lichtquelle (20) ein Umlenkspiegel angeordnet ist, dem Licht von einer außerhalb des Objektträgers (2) befindlichen Beleuchtungsquelle zuführbar ist.

6. Mikrotom nach Anspruch 5, dadurch gekennzeichnet, daß in einer seitlichen Bohrung (24) des Objektträgers (2), die zur Einspannöffnung (10) hin offen ist, das Ende eines Faserlichtleiters (23) befestigt ist, dem Licht durch eine Beleuchtungsquelle (21, 22) an seinem anderen Ende zugeführt wird.

7. Mikrotom nach einem der Ansprüche 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, daß zwischen dem Objektblock (3') und der Lichtquelle (12, 20) eine lichtdurchlässige Wärmeabschirmung (25) angeordnet ist.

8. Mikrotom nach einem der Ansprüche 1 bis 7, dadurch gekennzeichnet, daß der Objektträger (2) in an sich bekannter Weise längs eines Kreissegmentbogens (4) um einen annähernd in der Schneide des Messers (5) liegenden Punkt als Schwenkpunkt winkelverstellbar ist.

9. Mikrotom nach einem der Ansprüche 1 bis 8, dadurch gekennzeichnet, daß die Lichtquelle (12, 20) unabhängig von der Lichtquelle (17) zur Beleuchtung von oben und/oder von der Unterflurlichtquelle (18) schaltbar ist.

10. Mikrotom nach einem der Ansprüche 1 bis 9, dadurch gekennzeichnet, daß die Lichtquelle (12, 20) durch einen Kombinationsschalter in Kombination mit mindestens einer der Lichtquellen (17, 18) schaltbar ist.

Die Erfindung betrifft ein Mikrotom, insbesondere Ultramikrotom, mit einem relativ zu einem Messer bewegbaren Objektträger, der eine Einspannöffnung zur Halterung eines Objektblockes aus transparentem Material aufweist, und mit einer Lichtquelle zur Beleuchtung des Objekts.

Die meisten Objekte können in ihrer natürlichen Form und Beschaffenheit einer Schnittpräparation nicht

unterzogen werden. In den meisten Fällen ist man vielmehr gezwungen, solche Objekte (kleine Stücke tierischer oder menschlicher Organe wie Leber, Milz oder Gehirn, Zentrifugate von Körperflüssigkeiten, Teile von Pflanzen oder Mikroorganismen bzw. Gewebekulturen usw.) nach einer Stabilisation durch Aldehyd und/oder Schwermetall und Entwässerung in einen normalerweise transparenten oder durchsichtigen Kunststoff (z. B. Epoxid oder Polyester) einzubetten. Die hierbei erhaltenen, gut schneidbaren zylindrischen, flachen oder prismatischen »Objektblöcke« werden in einen Objektträger eingespannt und nach dem Zuschneiden (»Trimmen«) der jeweils interessierenden Zonen mit einem Metall-, Glas- oder Diamantmesser in die für die mikroskopische oder elektronenmikroskopische Untersuchung erforderlichen dünnen Schnitte zerlegt.

Die Erzeugung solcher einwandfreier Dünnschnitte mittels eines Mikrotoms, insbesondere Ultramikrotoms, setzt die genaueste Beobachtbarkeit des Objekt/Messer-Bereiches voraus. Insbesondere ist für den Erfolg einer derartigen Schnittpräparation entscheidend, den richtigen Bereich des Objektblockes auszuwählen. Zu diesem Zweck sind vor allem bei Ultramikrotomen der vorstehend angegebenen Art ein Stereomikroskop sowie eine Lichtquelle zur Beobachtung bzw. Beleuchtung des Objekt/Messer-Bereiches vorgesehen. Die Lichtquelle ist oberhalb und/oder unterhalb des Objekt/Messer-Bereiches angeordnet und häufig adjustierbar, um eine möglichst präzise Ausrichtung auf die Messerschneide und/oder auf die Schnittfläche am Objektblock zu ermöglichen.

Diese Vorkehrungen zur exakten Beobachtbarkeit des Objekt/Messer-Bereiches haben sich bisher nicht als voll zufriedenstellend erwiesen, und insbesondere die Auswahl des richtigen Bereiches des Objektblockes ist nicht immer möglich, weil die innere Struktur der Objekte, aber auch feine Oberflächenstrukturen oder auch sehr kleine Objekte damit nur schlecht dargestellt werden und folglich nicht so sicher identifiziert werden können, daß sich die interessierenden Details in der definitiven Schnittfläche befinden. In vielen Fällen muß man vielmehr feststellen, daß man beim Trimmen interessierende Bereiche des Objektes versehentlich entfernt und damit verloren hat und daß sich in der vorbereiteten Schnittfläche statt dessen Bereiche befinden, welche oftmals nicht nur nicht interessieren, sondern sogar den Schneidevorgang stören (z. B. harte Einschlüsse, schwer schneidbare Kollagenfasern oder Fettzellen). Bei der Identifikation der gewünschten bzw. unerwünschten Objektstellen hilft weder die heute allgemein verwendete Auflichtbeleuchtung durch Kaltlichtröhren oder ähnliche Lichtquellen oberhalb des Objektes noch die oft wahlweise, oder zusätzlich verwendete Dunkelfeldbeleuchtung, die den Objekt/Messer-Bereich von unten beleuchtet (Unterflurbeleuchtung). Vor allem gilt das, wenn das Objekt beim gezielten Zuschnitt am Objektträger befestigt ist und hierbei frontal mit einem Spiegelsystem (»structure viewer«) beobachtet wird.

Ist weiterhin eine bestimmte Adjustierung der Lichtquelle (Auflicht- und/oder Unterflurbeleuchtung) oder eine bestimmte Einstellung des Objekts relativ zu einer feststehenden Lichtquelle so gefunden, daß das Objekt im Rahmen des Möglichen optimal beleuchtet ist, so erweist es sich wiederum als ausgesprochen lästig, wenn die Stellung des Objekts relativ zum Messer zum Zweck der Erzielung optimaler Dünnschnitte erneut

verändert werden muß. Denn dann muß eine erneute Einstellung der Beleuchtung vorgenommen werden, damit die gewünschte exakte Beobachtbarkeit gewährleistet ist. Das ist z. B. bei Objektträgern der Fall, die zum Zweck der Winkeladjustierung mit sog. Segmentbogen kombiniert sind, längs denen sie um eine etwa in der Messerschneide liegende Schwenkachse verschwenkbar sind.

Der Erfindung liegt daher die Aufgabe zugrunde, die vorstehend genannten Nachteile zu vermeiden, d. h. ein Mikrotom, insbesondere Ultramikrotom, zu schaffen, dessen Beleuchtung auch Feinstrukturen des Objekts besser als bisher zur Geltung bringt, dabei aber Nachjustierungen bei einer Veränderung der Objektposition unnötig macht. Insbesondere soll die Verbesserung dahin gehen, daß es mit einem »structure viewer« in allen möglichen Lagen des Objektblockes ohne Schwierigkeit gelingt, die interessierenden Objektbereiche zum Schneiden auszuwählen bzw. die nicht interessierenden Objektbereiche im Rahmen des Trimmens gezielt zu eliminieren.

Erfindungsgemäß wird diese Aufgabe dadurch gelöst, daß die Lichtquelle innerhalb der Einspannöffnung des Objektträgers angeordnet ist.

Als Lichtquelle sitzt beispielsweise innerhalb der Einspannöffnung des Objektträgers eine Miniatur-Glühbirne, die so angeordnet ist, daß im Einspannzustand des Objektblockes dieser von der Lichtquelle durchstrahlt ist. Dabei wird die überraschende Erkenntnis ausgenützt, daß infolge der Transparenz oder Durchsichtigkeit des zur Einbettung des Objekts verwendeten Werkstoffen insbesondere die innere Struktur des Objekts deutlich dargestellt wird. Zweckmäßigerweise ist die Lichtquelle im Grund der Einspannöffnung oder an deren hinterem Ende, z. B. in einem Segmentbogen, so angeordnet, daß sie im Einspannzustand des Objektblockes hinter diesem liegt, so daß der Objektblock in Längsrichtung der Einspannöffnung durchstrahlt wird. Eine Beleuchtung des Objektblockes von innen her ist jedoch auch möglich, wenn die Lichtquelle seitlich vom Objektblock in der Wandung der Einspannöffnung angeordnet ist und unter einem bestimmten Winkel in den Objektblock hineinstrahlt.

Als Lichtquelle kann nach einer weiteren Ausgestaltung der Erfindung in der Einspannöffnung ein Umlenkspiegel angeordnet sein, der das Licht einer außerhalb der Einspannöffnung liegenden Lampe in den Objektblock lenkt. Hierdurch wird vermieden, daß das Objekt über eine zulässige Temperatur hinaus erwärmt wird, was insbesondere beim Arbeiten im Kryobereich zu beachten ist. Nach einer weiteren Ausgestaltung kann zur Vermeidung einer Erwärmung des Objekts das Licht durch einen Faserlichtleiter oder dgl. in den Objektblock eingestrahlt werden, wobei das lichtabgebende Ende des Faserlichtleiters so in der Einspannöffnung angeordnet oder dieser in deren Wandung zugeordnet ist, daß gebündeltes Licht in den Objektblock eingestrahlt wird. Gegebenenfalls kann auch daran gedacht werden, zwischen der in der Einspannöffnung vorhandenen Lichtquelle (Glühbirne, Umlenkspiegel, Ende des Faserlichtleiters) und dem Objektblock ein Wärmesperrfilter anzuordnen.

Im Rahmen einer vorteilhaften Ausgestaltung der Erfindung kann die geschilderte Innenbeleuchtung des Objektkörpers mittels eines Schalters für sich allein und unabhängig von evtl. vorhandenen anderen Beleuchtungsquellen ein- und ausgeschaltet werden. Darüber

hinaus kann daran gedacht werden, mittels eines Kombinationsschalters bestimmte vorteilhafte Kombinationen zwischen der Aufsicht- und/oder Unterflurlichtquelle und der erfindungsgemäßen Innenbeleuchtung mit einem Handgriff einstellbar zu machen, um dadurch vorteilhafte Mischbeleuchtungen zu erzielen, ohne daß hierzu mehrere Schalter gesondert bedient werden müssen.

Da die Lichtquelle im Objektträger selbst angeordnet ist, macht sie die Bewegungen und damit auch evtl. Adjustierbewegungen des Objektträgers zum Zweck der Einstellung des Objekts gegenüber dem Messer mit. Somit bleibt die Beleuchtungsqualität auch bei noch so weitreichenden Schwenkverstellungen des Objektträgers, beispielsweise an einem Segmentbogen stets unverändert gut.

Ausführungsbeispiele der Erfindung werden nachfolgend anhand der Zeichnungen näher erläutert. In den Zeichnungen zeigt

Fig. 1 eine rein schematische Seitenansicht, teilweise geschnitten, eines Ultramikrotoms,

Fig. 2 eine Detaildarstellung im Längsschnitt eines Objektträgers nach der Erfindung zur Anwendung bei dem Ultramikrotom gemäß Fig. 1 und

Fig. 3 eine modifizierte Ausführungsform des Objektträgers nach Fig. 2.

Das in Fig. 1 rein schematisch dargestellte Ultramikrotom besitzt einen auf- und abbewegbaren Objektarm 1, an dessen vorderem Ende ein Objektträger 2 für ein daran befestigtes Objekt oder Präparat 3 angeordnet ist. Der Objektträger 2 ist an einem Segmentbogen 4 so verschwenkbar befestigt, daß die Winkelstellung des Präparats 3 relativ zu der Schneide eines Messers 5 veränderbar ist, wobei das Zentrum des Segmentbogens 4, d. h. die Schwenkachse für die Schwenkverstellung des Objektträgers 2, angenähert in der Messerschneide liegt. Über dem Bereich von Objekt 3 und Messer 5 ist ein Steromikroskop 6 zur Beobachtung vorgesehen. In der Strahlenachse des Steromikroskops 6 ist auf nicht näher gezeigte Weise ein Umlenkspiegel 6', d. h. ein sog. »structure viewer« angeordnet, der eine Betrachtung und Untersuchung der Stirnseite des Objekts 3 zum Zweck des exakten Trimmens ermöglicht. Der geschilderte Aufbau und die daraus resultierende Funktion des Ultramikrotoms gemäß Fig. 1 sind bekannt und brauchen deshalb hier nicht näher erläutert zu werden.

Gemäß der Darstellung in Fig. 2 ist der Objektträger 2 an dem Segmentbogen 4 in nicht näher dargestellter Weise festgeklemmt und längs dem Segmentbogen 4 in beiden Richtungen gemäß dem eingetragenen Doppelpfeil winkelverstellbar. Auf der Rückseite des Segmentbogens 4 oder des Objektträgers 2 ist ein zapfenförmiger Fortsatz 7 angeordnet, der in eine Bohrung 8 des Objektarmes 1 einschiebbar und darin mittels einer Klemmschraube 9 festklemmbar ist.

An seinem vorderen Ende besitzt der Objektträger 2 eine Einspannöffnung 10 für das Objekt 3, das in einen Objektblock aus transparentem Material, z. B. Paraffin oder Kunststoff, eingegossen ist. Die Einspannöffnung 10 ist im Vergleich zu dem Objektblock 3' ausreichend tief, so daß im eingespannten Zustand des Objektblockes 3' bis zum Grund der Einspannöffnung 10 ein Raum 11 verbleibt, in welchem eine Lichtquelle 12 in Gestalt einer Miniatur-Glühbirne angeordnet ist. Die Lichtquelle 12 sitzt in einer am Grund der Einspannöffnung 10 vorgesehenen Fassung 13. Die Stromzuführungen zu der Fassung 13 sind nicht gezeigt; sie verlaufen jedoch außerhalb oder innerhalb des Segmentbogens 4 zu

Kontaktenden 14 am Ende des zapfenförmigen Fortsatzes 7, die mit entsprechenden Kontakten 15 in der Bohrung 8 des Objektarmes 1 in elektrisch leitender Verbindung stehen. Von den Kontakten 15 aus verlaufen Leitungen 16 zu einer nicht gezeigten Stromquelle.

Oberhalb des Objektträgers 2 kann eine Lichtquelle 17 und unterhalb davon eine Unterflurlichtquelle 18 angeordnet sein. In Verbindung mit der unmittelbaren Präparatbeleuchtung durch die Lichtquelle 12 ergibt sich daraus eine optimale Beleuchtung des Präparats 3 bzw. des Objekt/Messer-Bereiches des Ultramikrotoms.

Bei der Ausführungsform gemäß Fig. 3 sind im wesentlichen die gleichen Einrichtungskomponenten wie bei der Ausführung gemäß Fig. 2 vorhanden, die dementsprechend mit den gleichen Bezugszeichen versehen sind. Unterschiedlich dazu ist jedoch, daß anstelle einer Miniatur-Glühbirne 12 als Lichtquelle in dem Raum 11 der Einspannöffnung 10 ein Umlenkspiegel 20 angeordnet ist. Das Licht einer Glühbirne 21 mit einem Reflektor 22 wird über einen Faserlichtleiter 23, dessen Ende in einer seitlich am Objektträger vorgesehenen Öffnung 24 befestigt ist, dem Umlenkspiegel 20 zugeführt und von diesem um 90° umgelenkt und in den Objektblock 3' eingestrahlt. Zwischen dem Umlenkspiegel 20 und dem Objektblock 3' ist eine Wärmeabschirmung 25, z. B. eine dünne Kristallglas-

scheibe, angeordnet, die den Objektblock 3' vor einer unzulässigen Temperaturerhöhung durch Wärmestrahlung schützt. (Es versteht sich, daß auch bei der Ausführungsform gemäß Fig. 2 zweckmäßigerweise eine derartige Wärmeabschirmung oder ein Wärmefilter vorgesehen sein kann, wenn der Objektblock 3' vor einer Temperaturerhöhung geschützt werden soll, was insbesondere beim Arbeiten mit tiefen Temperaturen der Fall ist.)

Da Faserlichtleiter Licht mit verhältnismäßig geringem Verlust leiten, ist es möglich, die Glühbirne 21 irgendwo am Ultramikrotom anzuordnen und die Länge des Faserlichtleiters 23 so zu bemessen, daß weder die Bewegung des Objektarmes 1 noch die Verstellung des Objektträgers 2 an dem Segmentbogen 4 dadurch behindert wird.

Im Rahmen der Erfindung können gegenüber den vorstehend beschriebenen Ausführungsbeispielen Änderungen getroffen werden. So ist es denkbar, die Miniatur-Glühbirne 12 oder den Umlenkspiegel 20 in einer Verlängerung der Einspannöffnung 10 und damit des Raumes 11 oder hinter deren Ende im Segmentbogen 4 anzuordnen. Wesentlich ist nur, daß von der Lichtquelle abgestrahltes Licht so in den Objektblock 3' gelangt, daß aufgrund von dessen Transparenz oder Durchsichtigkeit die innere Struktur des Objektes 3 aufgeheilt und damit dargestellt wird.

Hierzu 2 Blatt Zeichnungen

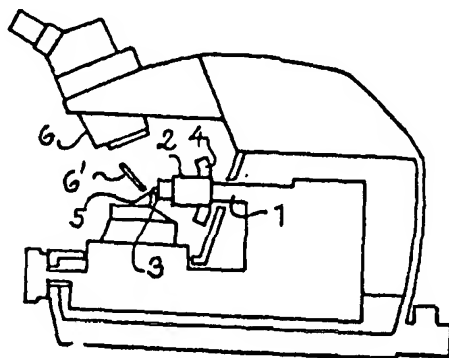


Fig. 1

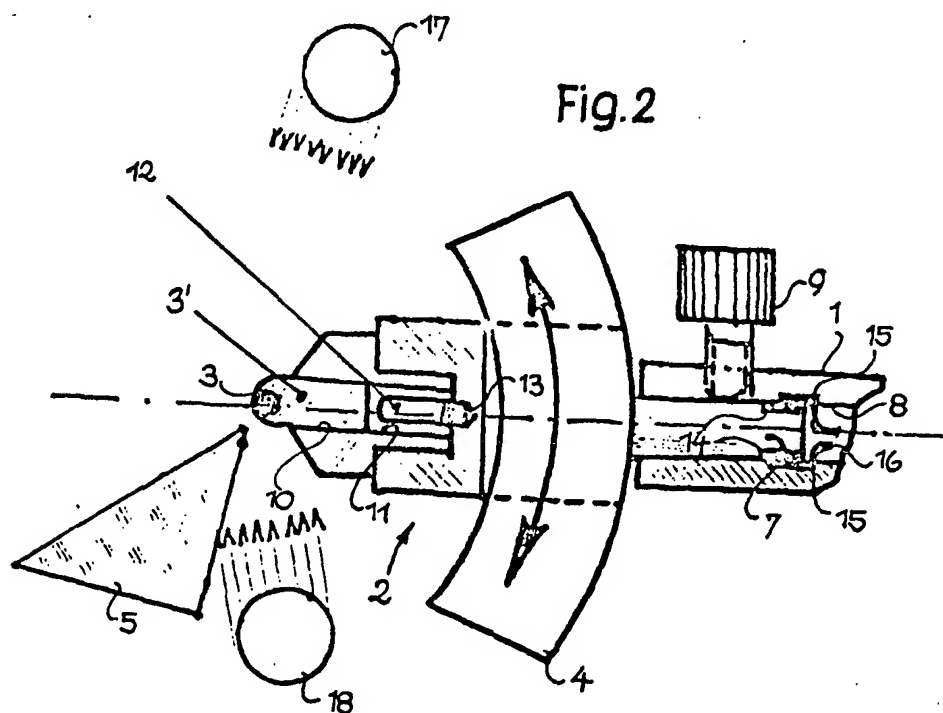


Fig. 2

